

Caractérisation moléculaire du Yam virus X (YVX) et du Yam necrosis virus (YNV), deux nouveaux virus des genres potexvirus et sadwavirus infectant les ignames en Guadeloupe, et mise au point d'outils de diagnostic

Isabelle Acina-Mambole^a, Lydiane Bonheur^a, Fabiola Anzala^b, Rose-Marie Gomez^b, David Lange^b, Chantal Faure^c, Denis Filloux^d, Philippe Roumagnac^d, Armelle Marais^c, Thierry Candresse^c, Claudie Pavis^b & Pierre-Yves Teycheney^a

^aCIRAD-Bios, UMR AGAP, Station de Neufchâteau, 97130 Capesterre-Belle-Eau, Guadeloupe

^bINRA, UR1321 ASTRO, Domaine Duclos, 97170 Petit Bourg, Guadeloupe

^cINRA & Université de Bordeaux, UMR 1332 BFP, 71 Avenue Edouard Bourleaux, 33883 Villenave d'Ornon, France

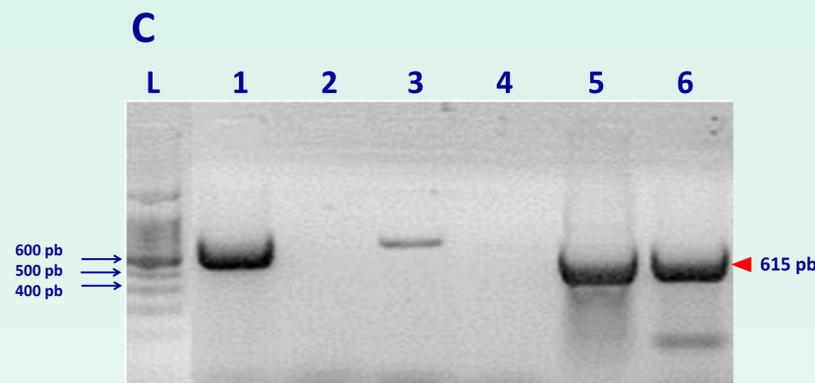
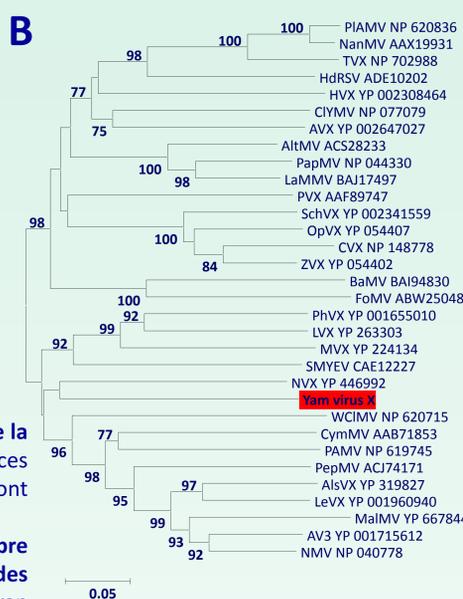
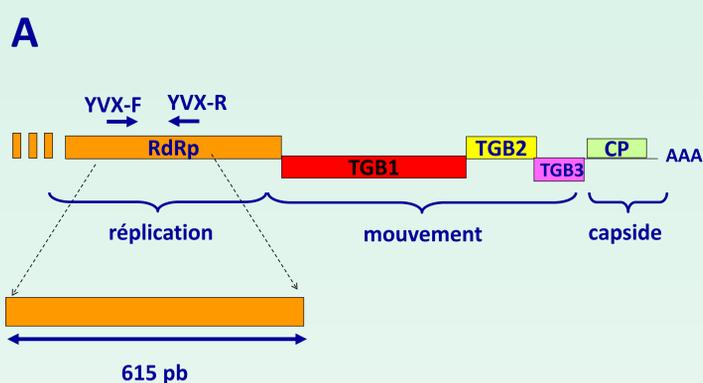
^dCIRAD-Bios, UMR BGPI, TA A-54 / K, Campus Intl de Baillarguet, 34398 Montpellier, France

teycheney@cirad.fr



Les ignames (*Dioscorea* spp.) constituent l'une des ressources alimentaires les plus importantes en Afrique, dans la Caraïbe, en Amérique du Sud et dans les îles du Pacifique. Les espèces cultivées hébergent de nombreux virus des genres *potexvirus*, *carlavirus*, *badnavirus*, *cucumovirus*, *macluravirus* et *potyvirus*. Deux nouveaux virus appartenant aux genres *potexvirus* et *sadwavirus*, baptisés respectivement Yam virus X (YVX) et Yam necrosis virus (YNV), ont été mis en évidence par analyses *in silico* d'EST d'ignames. La partie 3' du génome de chacun de ces virus a été amplifiée par 3'RACE à partir de plantes infectées récoltées en Guadeloupe, clonée puis séquencée. Les séquences obtenues ont permis d'établir les relations phylogéniques de ces espèces virales au sein des genres *potexvirus* et *sadwavirus* respectivement. Des amorces spécifiques de chacun de ces deux virus ont été dessinées dans la région codant l'ARN polymérase ARN dépendante (RdRp) et utilisées pour la mise au point de tests de détection moléculaire par direct binding reverse transcription PCR (DB-RT-PCR) dans des broyats de feuilles. Ces outils complètent l'arsenal disponible pour le diagnostic des virus des ignames, qui constituent la principale contrainte pour la conservation et la diffusion de ressources génétiques. Ils constituent également des outils indispensables aux études de prévalence du YVX et du YNV entreprises en Guadeloupe.

Organisations génétique, phylogénie et détection du Yam mosaic virus X (YVX)

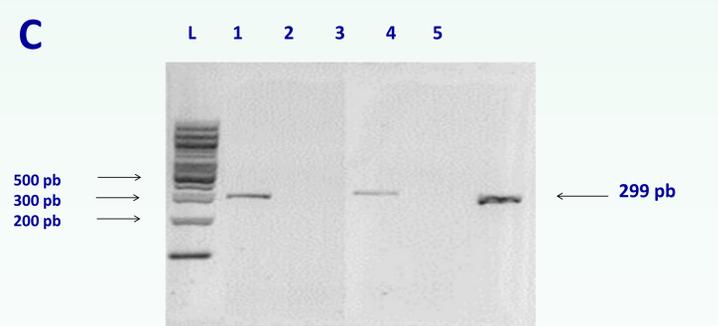
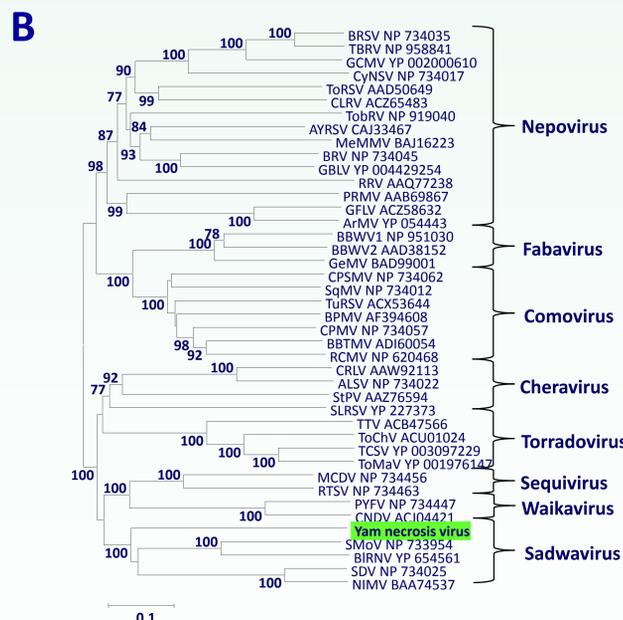
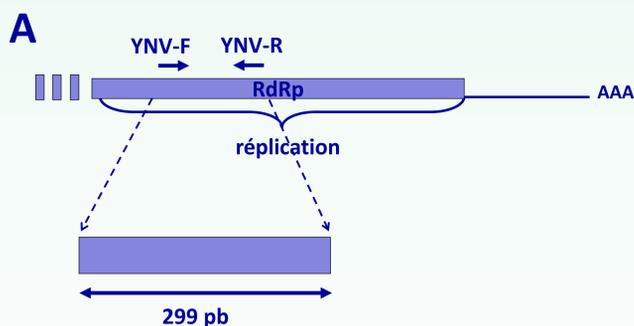


A. Organisation génétique du YVX déduite de la séquence nucléotidique de la partie 3' terminale (3164 nucléotides) de son ARN génomique. Les amorces spécifiques YVX-F et YVX-R dessinées dans l'ORF 1 codant la RdRp sont représentées. Ces amorces permettent d'amplifier un fragment de 615 pb.

B. Position taxonomique du YVX dans le genre *potexvirus* : arbre phylogénique reconstruit pour la partie C terminale de la RdRp (414 acides aminés) du YVX (*neighbour joining*). Seules les valeurs de bootstrap supérieures à 70% sont indiquées. Echelle : 0.05 substitution par site.

C. Détection du YVX par direct binding reverse transcription PCR (DB-RT-PCR)
L: Marqueur de taille d'ADN 100 pb (Promega); 1: échantillon infecté (*D. trifida*); 2: contrôle négatif (échantillon sain); 3: échantillon infecté (*D. trifida*); 4: contrôle négatif (mélange réactionnel); 5: contrôle positif de RT-PCR (50ng d'ARN totaux extraits de plante infectée); 6: contrôle positif de PCR (10 ng d'ADN plasmidique contenant une partie du génome du YVX cloné).

Organisations génétique, phylogénie et détection du Yam necrosis virus (YNV)



A. Organisation génétique de l'ARN1 du YNV déduite de la séquence nucléotidique de sa partie 3' terminale (1671 nucléotides). Les amorces spécifiques YNV-F et YNV-R dessinées dans la partie de l'ARN1 codant la RdRp sont représentées. Ces amorces permettent d'amplifier un fragment de 299 pb.

B. Position taxonomique du YNV dans la famille *Secoviridae* : arbre phylogénique reconstruit pour la partie C terminale de la RdRp (503 acides aminés) du YNV (*neighbour joining*). Seules les valeurs de bootstrap supérieures à 70% sont indiquées. Echelle : 0.1 substitution par site.

C. Détection du YNV par direct binding reverse transcription (DB-RT-PCR)
L: Marqueur de taille d'ADN 100 pb (Promega); 1: échantillon infecté (*D. alata*); 2: contrôle négatif (échantillon sain); 3: échantillon infecté (*D. alata*); 4: contrôle négatif (mélange réactionnel); 5: contrôle positif de PCR (10 ng d'ADN plasmidique contenant une partie de l'ARN1 du YNV cloné).

Conclusions & perspectives

- Deux nouvelles espèces virales infectant les ignames ont été identifiées et leur génome a été partiellement caractérisé au plan moléculaire
- Les analyses phylogéniques montrent que ces virus appartiennent respectivement aux genres *potexvirus* et *sadwavirus*
- Des méthodes de diagnostic par direct binding reverse transcription PCR (DB-RT-PCR) ont été mises au point pour chacun de ces virus
- Ces outils sont actuellement utilisés pour conduire une étude de prévalence du YVX et du YNV en Guadeloupe
- Des travaux sont également en cours pour compléter la caractérisation moléculaire des ARN génomiques de ces deux virus

